

胎齢中期牛胎子におけるアカバネウイルス感染初期のウイルス抗原分布と病変形成

著者	田中 省吾, 川崎 健一, 佐藤 真澄, 梁瀬 徹, 加藤 友子, 堀脇 浩孝, 山川 睦
雑誌名	動物衛生研究所研究報告
巻	116
ページ	11-20
発行年	2010-01-29
URL	http://doi.org/10.24514/00002044

doi: 10.24514/00002044

胎齢中期牛胎子におけるアカバネウイルス感染初期のウイルス抗原分布と病変形成

田中省吾^{1)*}, 川崎健一¹⁾, 佐藤真澄²⁾, 梁瀬 徹¹⁾,
加藤友子¹⁾, 堀脇浩孝¹⁾, 山川 睦¹⁾

(平成 21 年 8 月 12 日 受付)

Detection of Akabane viral antigens in lesions found in fetal calves resulting from experimental intrauterine infection

Shogo TANAKA^{1)*}, Kenichi KAWASAKI¹⁾, Masumi SATO²⁾, Tohru YANASE¹⁾,
Tomoko KATO¹⁾, Hirotaka HORIWAKI¹⁾ & Makoto YAMAKAWA¹⁾

胎齢中期牛胎子におけるアカバネウイルス (AKAV) 感染初期のウイルス抗原分布と病変を解明するために感染実験を実施した。妊娠 150 日目の黒毛和種牛 2 頭の左上臍部を切開し、胎子の大腿部に子宮壁を通して外科的に AKAV (OBE-1 株) を接種し、接種後 7 日目の胎子臓器をウイルス学的、病理組織学的および免疫組織化学的に検索した。いずれの胎子でも小脳、延髄、頸髄および心臓から AKAV が分離された。脳幹部を主体に血管性細胞浸潤やグリア結節が認められ、肝臓、心臓および接種部大腿筋の血管周囲にリンパ球、マクロファージの浸潤がみられたが、いずれの胎子にも筋炎は認められなかった。AKAV 抗原は、脳幹部の神経細胞、神経軸索、神経線維のほか、グリア細胞や血管周囲の浸潤マクロファージに検出された。脊髄には病変形成はみられなかったが、腹角神経細胞や神経軸索に抗原が検出された。以上の結果から、胎齢中期牛胎子では AKAV 感染初期に脳幹部を主体として非化膿性炎が起こっていたことから、ウイルスの増殖と体内伝播は筋組織よりも脳幹部の神経細胞や神経線維を主体に起こることが示された。

緒 言

アカバネ病は、ブニヤウイルス科オルソブニヤウイルス属に属するアカバネウイルス (AKAV) が、妊娠した牛や山羊、羊に感染して早・流・死産や新生子の関節彎曲症・水無脳症候群を起こす疾病である^{3,7,10,19)}。近年、我が国ではワクチンの普及により本病の大規模な流行はないものの九州・沖縄地方で毎年のように発生が確認されている²¹⁾。2006～2007 年には、AKAV の生後感染によって牛に非化膿性脳脊髄炎が引き起こされ、九州地方を中心に起立不能などの神経症状を呈する症例が多発した^{2,5,22,23)}。やがて、これらの症例は 1984 年に脳炎を起こした子牛から分離された Iriki 株¹¹⁾ と近縁な株に起因することが判明した。これらのことから、ワクチン接

1) 動物衛生研究所 環境・常在疾病研究チーム (九州支所駐在)
2) 動物衛生研究所 環境・常在疾病研究チーム (九州支所駐在)
(現: 動物衛生研究所 疫学情報室)

1) Research team for Environmental/Enzootic Diseases, Kyushu Research Station, National Institute of Animal Health

2) Research team for Environmental/Enzootic Diseases, Kyushu Research Station, National Institute of Animal Health (present: Epidemiological Information Section)

* Corresponding author: Shogo TANAKA

Research Team for Environmental/Enzootic Diseases,
Kyushu Research Station,
National Institute of Animal Health
2702 Chuzan-cho, Kagoshima 891-0105 JAPAN
Tel: 099-268-2159
Fax: 099-268-3088
E-mail: tanakas@affrc.go.jp

種の励行とともに本病の効率的な予防・診断のための取り組みが推進されている²¹⁾。

アカバネ病の病理発生に関する野外症例および妊娠牛や山羊、羊を用いた感染実験による報告^{3,4,6,8,13,15,16,20)}から AKAV の起病性は二元的である。感染初期の原発性病変は、中枢神経系の非化膿性脳脊髄炎と骨格筋系の多発性筋炎で、両病変の成立にはウイルス感染時の胎・年齢因子が関与することが想定されている^{3,19,13)}。しかし、牛胎子の感染実験の報告は少なく^{19,20)}、野外の発生症例では感染直後の原発性病変をみることは希で、原発性病変に由来する後遺的病変に組織発生上の生理的变化が加わった修飾病変をみることが多い¹⁹⁾。そのため、感染初期の牛胎子組織におけるウイルスの動態や病変形成部位は精査されていない。また、Iriki 株による生後感染アカバネ病と診断された症例^{2,5,22,23)}の他に非化膿性脳脊髄炎や AKAV 抗原が検出された報告^{14,18,20)}は少ない。さらに AKAV の感染実験では、動物種、接種方法、接種時期およびウイルス株により野外でみられる病変の再現性や病変発現部位に違いが見られること^{1,4,6,12,13,15)}から、牛胎子期の感染初期における AKAV の感染動態や原発病変の形成部位について完全に解明されるには至っていない。

そこで本研究では、確実に牛胎子に AKAV を感染させ、感染初期におけるウイルス動態と病変形成部位とを明らかにするため、未だ報告のない胎齢中期（胎齢 150 日）の牛胎子に直接 AKAV OBE-1 株を接種し、接種後 7 日目の胎子についてウイルス学的検査を実施するとともに胎子組織における病変とウイルス抗原の局在を病理組織学的および免疫組織化学的に検索した。

材料と方法

ウイルス

AKAV OBE-1 株⁴⁾を乳飲みマウス脳内接種で 2 代、ハムスター肺由来株化 (HmLu-1) 細胞で 1 代、さらに乳飲みマウス脳内接種で 2 代継代後使用した。

牛胎子へのウイルス接種

妊娠 150 日の黒毛和種母牛 2 頭 (7.5 歳齢) の左上臍部を局所麻酔して切開後、フィンガーチップ型探触子 (HITACHI 社) を用いて子宮内胎子をエコーモニターで確認しながら子宮壁を通して胎子大腿部にウイルス液を 2ml (10^{6.75} TCID₅₀/ml) 筋肉内注射した。ウイルス接種後 7 日目に胎子を帝王切開または試験的屠殺により摘出し、胎盤および胎子血液、中枢神経系組織を主体に肝臓、腎臓、脾臓、肺、心臓、消化管、甲状腺、副腎、胸腺、

内腸骨リンパ節、大腿部骨格筋を採材し、実験に供した (動物衛生研究所動物実験計画書: 承認番号第 724 号)。

ウイルス分離と中和試験

ウイルス分離のために採材した胎子血液、羊水、胎盤、大脳、小脳、延髄、頸髄、胸髄、腰髄、大腿部骨格筋、肝臓、腎臓、脾臓、肺、心臓および内腸骨リンパ節は、滅菌リン酸緩衝液 (PBS) で洗浄して計量後、実質臓器は細切し、MEM 培地 (血清不含, 10 μg/ml ゲンタマイシン含) を加え、ULTRA-TURRAX ホモジナイザー (IKA works 社) で 10% (W/V) 乳剤とした。本乳剤を 4°C で遠心分離後、その上清を HmLu-1 細胞に接種し、37°C で回転培養した。分離確認は、培養開始後 1 週間毎に 3 回継代する間に発現した細胞変性効果で判定した。AKAV OBE-1 株に対する中和抗体価は、被検血清 56°C, 30 分非働化後、マイクロタイター法によって測定した。96 ウェルマルチプレート 2 列に血清不含 MEM 培地を用いて被検血清の 2 倍階段希釈を作製し、100TCID₅₀ に調整したウイルス液を等量加えて混和後、37°C で 1 時間中和反応を行った。その後、GIT 培地 (和光純薬) に浮遊した HmLu-1 細胞を添加し、炭酸ガス培養器で培養した。細胞変性効果を 50% 以上抑制した血清の最高希釈倍数の逆数を中和抗体価とした。

病理組織学的および免疫組織化学的検査

採材臓器は、10% 中性緩衝ホルマリンで固定後、定法に従いパラフィン包埋した。パラフィン包埋連続切片を作製し、ヘマトキシリン・エオジン (HE) 染色を実施して病理組織学的検査を行った。また、連続する切片には、AKAV 抗原を検出するために免疫組織化学的染色を実施した。一次抗体には、AKAV OBE-1 株感染ウサギ由来株化 (RK13) 細胞を可溶化し、その遠心上清を抗原としてウサギを免疫して作製した抗 AKAV OBE-1 株家兔免疫血清 (1:1000) を使用し、市販キット「ヒストファイン SAB-PO (M)」(ニチレイバイオサイエンス社、東京) を用いて反応させ、3,3'-diaminobenzidine (DAB) で発色後、光学顕微鏡下で抗原の有無を判定した。

結 果

臨床・剖検所見

ウイルス接種翌日から母牛 2 頭ともに微熱 (39.3-39.8°C) が観察された。母牛 1 頭は、接種後 4 日目には平熱 (38.6°C) に復し、7 日目に試験屠殺して胎子 (胎子 #1) を摘出した。他の母牛 1 頭は、7 日目まで

微熱が続いたが、帝王切開により胎子（胎子 #2）を摘出した。胎子採取時、胎子 2 頭はともに生存しており、胎子 #1 の体長は 36cm、体重 3.5kg、胎子 #2 は、体長 37cm、体重 3.9kg であった。胎子 2 頭とも外貌や臓器に肉眼的な異常は認められなかった。

ウイルス分離成績

胎子血清の AKAV に対する中和抗体価は、いずれも 2 倍未満であった。胎子摘出時の母牛の中和抗体価は、#1 が 256 倍、#2 は 2 倍未満であった。

母牛 2 頭の血液から AKAV は検出されなかった。また、胎子 #1 および #2 ともに血液、羊水、胎盤、大腦外套および脾臓から AKAV は分離されなかったが、小脳や延髄、頸髄および心臓から AKAV が分離された（Table 1）。また、胎子 #1 の胸髄、肝臓、腎臓、肺、大腿部骨格筋および内腸骨リンパ節からも AKAV が分離された（Table 1）。

病変形成と AKAV 抗原の検出結果

病理組織学的検査および免疫組織化学的染色の結果を Table 2 に示す。

胎子 2 頭ともに AKAV が分離されなかった大腦外套では、著変は認められなかった。しかし、大腦髄膜の血管周囲にリンパ球とマクロファージを主体とする軽度から中等度の細胞浸潤がいずれの胎子にも散見された（Fig.1）。脳幹部では視床脳の外側膝状体にリンパ球とマクロファージによる軽度の囲管性細胞浸潤およびグリア結節が 2 頭ともに認められた。これらの病変部に浸潤するマクロファージやグリア細胞には AKAV 抗原が検出された（Fig.2）。また、胎子 #1 の小脳および延髄では病変および AKAV 抗原は認められなかったが、胎子 #2 の中脳大脳脚、橋および延髄内側縦束ではリンパ球とマクロファージによる軽度から中等度の囲管性細胞浸潤およびグリア結節が認められた。橋を主体として結節内のグリア細胞と病変部近辺にみられる神経細胞、神経軸索および神経線維内に AKAV 抗原が検出された（Fig.3 および 4）。これらの陽性反応は、囲管性細胞浸潤部のマクロファージよりもグリア結節内のグリア細胞や神経細胞に強い傾向が認められた。また、両胎子の頸髄から腰髄にかけて著明な病変形成はみられなかったが、同部位の硬膜およびクモ膜に浸潤するマクロファージ（Fig.5）や腹角神経細胞内に AKAV 抗原が検出された（Fig.6）。

中枢神経系以外の臓器では、2 頭ともにウイルス接種部である大腿部骨格筋間質の毛細血管周囲にリンパ球

とマクロファージの浸潤がみられ、マクロファージ細胞質内に AKAV 抗原が検出された（Fig.7）。しかし、筋線維自体には萎縮や断裂などの変性および炎症性細胞の浸潤などの病変形成は認められなかった。また、両胎子とも肺間質（Fig.8）や心外膜下（Fig.9）の血管周囲に軽度に浸潤するマクロファージあるいは肝クッパー細胞（Fig.10）にも AKAV 抗原が検出された。胎盤やその他の胎子臓器に著変はみられず、AKAV 抗原も検出されなかった。

考 察

本研究では、牛胎子に確実に AKAV を接種、感染させるため、Tsuda ら¹⁷⁾ がアイノウイルスで牛胎子に関節彎曲症・水無脳症・小脳形成不全症候群を再現した接種手技に従い、胎齢 150 日の牛胎子の大腿部に子宮壁を通して AKAV OBE-1 株を筋肉内注射した。その結果、接種後 7 日目に脳幹部を主体に中枢神経系組織からウイルスが分離されるとともに非化膿性脳炎が認められた。また、ウイルス抗原は病変部に浸潤するマクロファージやグリア細胞のみならず、脳幹部および病変形成のみられなかった脊髄の神経細胞や神経線維内に検出された。よって同接種法は技術的な煩雑さを伴うものの、牛胎子に対する病原性を直接確認するための感染実験に応用でき、母牛の抗体保有の影響を受けることなく確実に一定の胎齢期の胎子におけるウイルス感染動態を比較・解析する有効な手法となることが確認された。

今回、AKAV を実験感染させた牛胎子では感染初期に脳幹部と脊髄の神経細胞や神経線維でウイルス感染が証明された。一方、ウイルス接種部位を含めた骨格筋線維には病変形成および AKAV 抗原は検出できなかった。アカバネ病の野外例や妊娠牛、山羊を用いた感染実験の報告^{4,19,20)} では、発生学的に胎齢 3 ヶ月頃までの筋管細胞¹⁹⁾ において炎症性細胞浸潤を伴う筋炎が認められている。それ以降の成熟した筋線維では、妊娠 6 ヶ月の母牛に静脈内接種で経胎盤感染した 1 例に断裂や崩壊などの筋変性がみられたのみで、新生子の脳内に直接接種した実験において筋炎は観察されなかった⁴⁾。これらの報告から、筋炎は感染時の胎齢が早期から中期頃までの症例に発現し、感染標的として未成熟筋線維の関与が示唆^{4,19,20)} されており、体形異常を伴うアカバネ病における矮小筋症は、胎齢早期に起こる多発性筋炎の後遺的病変と考えられている^{19,20)}。また、Iriki 株系統のウイルスによるアカバネ病生後感染例では新生子牛の骨格筋に筋線維の断裂や崩壊を認めた報告^{2,9)} があるが、多発性筋炎の

記載はみられない^{5,11,23)}。本研究の胎子大腿筋は、いずれも成熟筋線維であり、筋線維自体に変性や炎症、AKAV 抗原は認められなかったが、1 頭の大腿部骨格筋から AKAV が分離され、骨格筋における感染が示唆された。しかし、骨格筋以外にも心臓、肺、肝臓、腎臓および内腸骨リンパ節から AKAV が分離され、血管周囲の浸潤マクロファージのみにウイルス抗原が検出されたことから、骨格筋における AKAV の分離はウイルス接種後数日で起こるウイルス血症⁸⁾を反映しており、筋線維を標的とする感染ではないと考えられた。

一方、AKAV 感染による胎子の非化膿性脳脊髄炎は、妊娠早期 (1-2 ヶ月) の母牛や妊娠 1 ヶ月の母山羊に静脈内接種して経胎盤感染した早期胎齢の胎子には認められなかった⁴⁾が、胎齢 3 ヶ月の牛野外例や山羊胎子に直接接種した実験感染例で報告^{4,19,20)}されている。また、非化膿性脳脊髄炎を主徴とする Iriki 株¹¹⁾以外のウイルス株 (OBE-1, JaGAR39, R7949, R7946) を用いた感染実験においても、生後 14 日齢から 1 歳齢までの子牛を用いた直接脳内接種例⁴⁾や妊娠羊の経胎盤感染例¹³⁾、齧歯類への脳内接種および静脈内接種例¹²⁾で脳炎発症の報告がある。これらの報告から、AKAV は反芻獣や齧歯類において幅広い胎齢あるいは月・年齢の中枢神経系組織に親和性があり、起病性を有していると思われる^{4,19,20)}。今回の感染実験でも AKAV が感染初期に小脳や延髄から分離され、橋や延髄を中心に非化膿性脳炎の病変部において、また、脊髄では病変形成に関連のない神経細胞や神経線維に AKAV 抗原が検出された。以上のことから、AKAV が骨格筋よりも脳幹部や脊髄を主とする中枢神経系組織に高い親和性を有し、感染初期からこれらの中枢神経系組織がウイルスの増殖および伝播に重要な役割を持つことが改めて明らかにされた。

今後、アカバネ病を疑う症例が発生した場合、胎子期の長期にわたりウイルス感染の主体となる中脳、橋、延髄および脊髄は遺伝子診断等の高感度な診断法のための採材部位として重要である。また、脳幹部の神経細胞に対する AKAV 感染の親和性機序を解明することは、新しい予防法の開発の糸口となるとと思われる。

謝 辞

外科的 AKAV 接種および帝王切開による胎子摘出にご協力いただいた鹿児島大学農学部獣医学科臨床獣医学講座獣医繁殖学分野 窪田 力准教授に深謝いたします。

文 献

- 1) Ikeda, S. & Yonaiyama, K.: Deformities of chick embryos in experimental Akabane virus infection. *Natl. Inst. Anim. Health Q. (Tokyo)* 18, 89-96(1978).
- 2) Kamata, H., Inai, K., Maeda, K. et al.: Encephalomyelitis of cattle caused by Akabane virus in southern Japan in 2006. *J. Comp. Pathol.* 140, 187-193(2009).
- 3) Konno, S., Moriwaki, M. and Nakagawa, M.: Akabane disease in cattle: Congenital abnormalities caused by viral infection. *Spontaneous disease. Vet. Pathol.* 19, 246-266(1982).
- 4) Konno, S. & Nakagawa, M.: Akabane disease in cattle: Congenital abnormalities caused by viral infection. *Experimental disease. Vet. Pathol.* 19, 267-279(1982).
- 5) Kono, R., Hirata, M., Kaji, M. et al.: Bovine epizootic encephalomyelitis caused by Akabane virus in southern Japan. *BMC Vet. Res.* 4, 20(2008).
- 6) Kurogi, H., Inaba, Y., Takahashi, E. et al.: Experimental infection of pregnant goats with Akabane virus. *Natl. Inst. Anim. Health Q. (Tokyo)* 17, 1-9(1977).
- 7) Kurogi, H., Inaba, Y., Takahashi, E. et al.: Epizootic congenital arthrogryposis-hydranencephaly syndrome in cattle: Isolation of Akabane virus from affected fetuses. *Arch. Virol.* 51, 67-74(1976).
- 8) Kurogi, H., Inaba, Y., Takahashi, E. et al.: Congenital abnormalities in newborn calves after inoculation of pregnant cows with Akabane virus. *Infect. Immun.* 17, 338-343(1977).
- 9) Liao, Y.K., Lu, Y.S., Goto, Y. et al.: The isolation of Akabane virus (Iriki strain) from calves in Taiwan. *J. Basic Microbiol.* 36, 33-39(1996).
- 10) Miura, Y., Hayashi, S., Ishihara, T. et al.: Neutralizing antibody against Akabane virus in precolostral sera from calves with congenital arthrogryposis-hydranencephaly syndrome. *Arch. Gesamte Virusforsch* 46, 377-380(1974).
- 11) Miyazato, S., Miura, Y., Hase, M. et al.:

- Encephalitis of cattle caused by Iriki isolate, a new strain belonging to Akabane virus. *Nippon Juigaku Zasshi*. 51, 128-136(1989).
- 12) Nakajima, Y., Takahashi, E. & Konno, S.: Encephalitogenic effect of Akabane virus on mice, hamsters and guinea pigs. *Natl. Inst. Anim. Health Q. (Tokyo)* 20, 81-82(1980).
- 13) Narita, M., Inui, S. & Hashiguchi, Y.: The pathogenesis of congenital encephalopathies in sheep experimentally induced by Akabane virus. *J. Comp. Pathol.* 89, 229-240(1979).
- 14) Noda, Y., Yokoyama, H., Katsuki, T. et al.: Demonstration of Akabane virus antigen using immunohistochemistry in naturally infected newborn calves. *Vet. Pathol.* 38, 216-218(2001).
- 15) Parsonson, I.M., Della-Porta, A.J. & Snowdon, W.A.: Congenital abnormalities in newborn lambs after infection of pregnant sheep with Akabane virus. *Infect. Immun.* 15, 254-262(1977).
- 16) Parsonson, I.M., Della-Porta, A.J., Snowdon, W.A. et al.: Experimental infection of bulls with Akabane virus. *Res. Vet. Sci.* 31, 157-160(1981).
- 17) Tsuda, T., Yoshida, K., Ohashi, S. et al.: Arthrogryposis, hydranencephaly and cerebellar hypoplasia syndrome in neonatal calves resulting from intrauterine infection with Aino virus. *Vet. Res.* 35, 531-538(2004).
- 18) Uchida, K., Murakami, T., Sueyoshi, M. et al.: Detection of Akabane viral antigens in spontaneous lymphohistiocytic encephalomyelitis in cattle. *J. Vet. Diagn. Invest.* 12, 518-524(2000).
- 19) 紺野 悟：アカバネ病の病理発生．*獣医学*．39-58(1986).
- 20) 紺野 悟：昭和 47 年以降本邦に多発した牛の異常産－アカバネ病の病理－．*家畜繁殖誌*．22 卷（別輯 15 号），39-55(1977).
- 21) 山川 睦：アカバネウイルスによる牛の脳脊髄炎．*家畜診療*．56, 141-147(2009).
- 22) 大谷 研文，中谷 英嗣：アカバネウイルスの生後感染による子牛の脳脊髄炎．*山口獣医学雑誌*．35, 1-8(2008).
- 23) 平田 美樹，後藤 介俊，池田 省吾ほか：鹿児島県で発生した若齢牛の非化膿性脳脊髄炎．*日本獣医師会雑誌*．61, 771-776(2008).

Table 1. Isolation of virus from fetuses inoculated with AKAV

Fetus#	Organs															
	Blood	Hemocyte	Placenta	Cerebrum	Cerebellum	Medullary	Cervical	Thoracic spinal cord	Lumbar spinal cord	Liver	Kidney	Spleen	Lung	Heart	Thigh muscle	Internal iliac node
1	-	-	-	-	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+
2	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-

Table 2. Results of histopathological and immunohistochemical examination

Fetus#	Organs																
	Placenta	Cerebral cortex	Diencephalon	Cerebral meninx	Mesencephalon	Pons	Cerebellum	Medullary	Cervical spinal cord	Thoracic spinal cord	Lumbar spinal cord	Liver	Kidney	Spleen	Lung	Heart	Thigh muscle
1	Lesion*	-	-	¹⁾ + ²⁾ +	-	-	-	-	²⁾ + ²⁾ +	²⁾ + ²⁾ +	²⁾ + ²⁾ +	-	-	²⁾ + ²⁾ +	²⁾ + ²⁾ +	²⁾ + ²⁾ +	-
	AKAV [†] antigen	-	-	A) D B) D	-	-	-	-	B) D B) D	B) D B) D	B) D B) D	-	-	B) D B) D	B) D B) D	B) D B) D	-
2	Lesion*	-	-	¹⁾ + ²⁾ ++ ¹⁾ +	¹⁾ ++ ¹⁾ ++	¹⁾ ++ ¹⁾ ++	¹⁾ ++ ¹⁾ ++	¹⁾ ++ ²⁾ +	²⁾ + ²⁾ +	²⁾ ++ ²⁾ +	²⁾ ++ ²⁾ +	-	-	-	-	²⁾ + ²⁾ +	-
	AKAV [†] antigen	-	-	A) D B) D	A) D B) D	A) D B) D	-	B) D	A) D B) D	A) D B) D	B) D	-	-	B) D B) D	B) D B) D	B) D B) D	-

* Histological lesions: - = not found; + = mild and ++ = moderate.

¹⁾ Perivascular cuffing and gliosis ²⁾ Perivascular macrophage infiltration

[†] The results of immunostain for akabane virus: - = not detected; D = detected.

A) AKAV antigens detected in nerve cells, nerve fibers and neuroglia.

B) AKAV antigens detected in infiltrating macrophages.

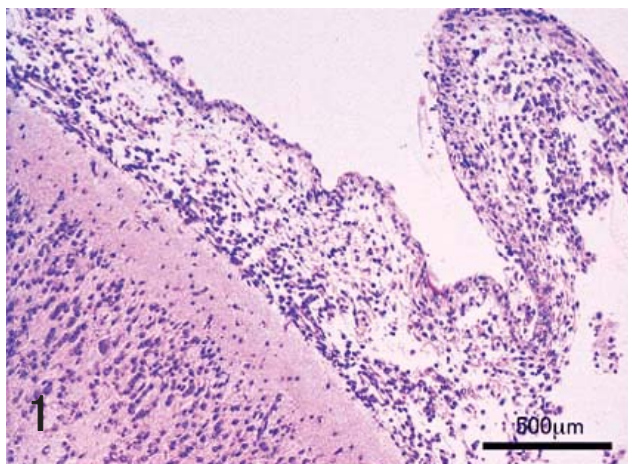


Fig.1 Fetus #2: Nonsuppurative meningitis observed in the cerebral meninges. HE stain.

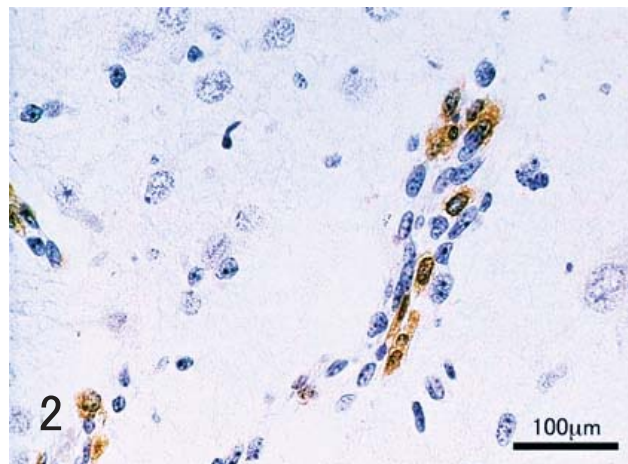


Fig.2 Fetus #1: Akabane virus (AKAV) antigen within the cytoplasm of infiltrating macrophages in the perivascular space. Immunohistochemistry (IHC).

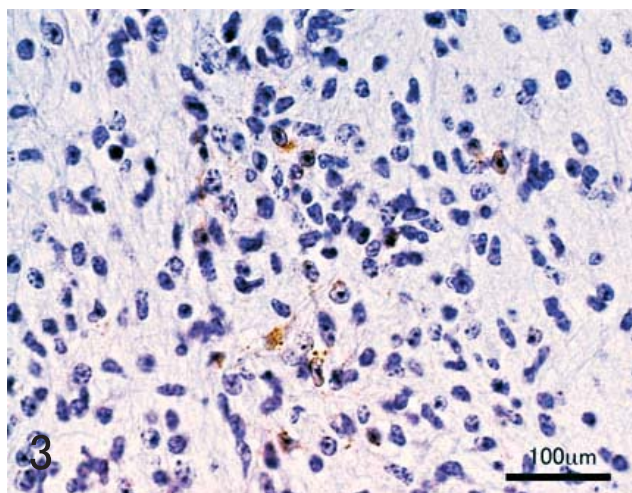


Fig.3 Fetus #2: AKAV antigen within the cytoplasm of microglia in the pons. IHC.

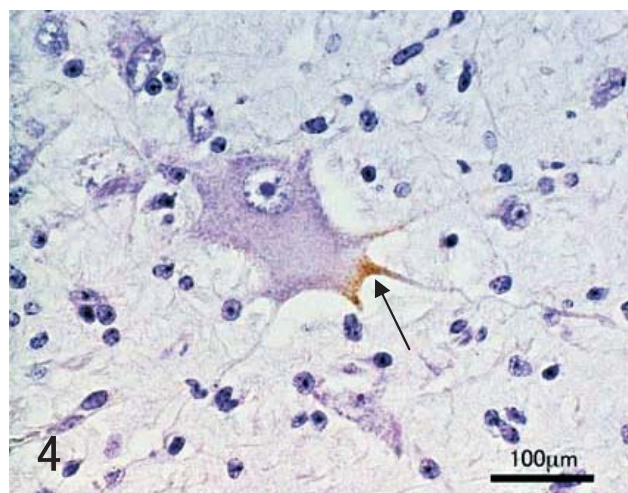


Fig.4 Fetus #2: AKAV antigen observed in the axon hillock (arrow) of a neuron in the pons. IHC.

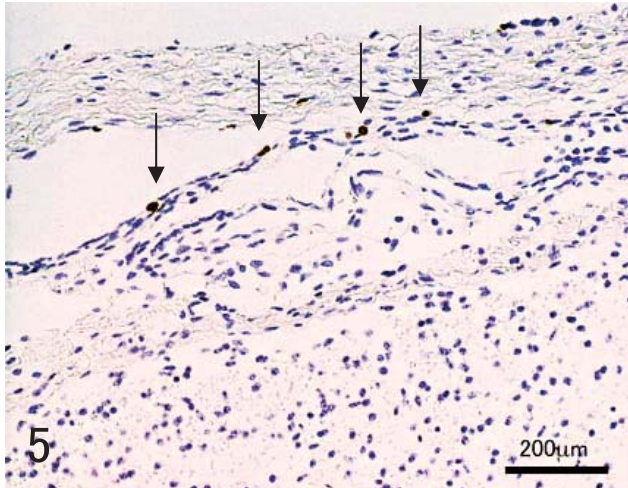


Fig.5 Fetus #1: AKAV antigen within the cytoplasm of infiltrating macrophages (arrows) in the meninges. IHC.

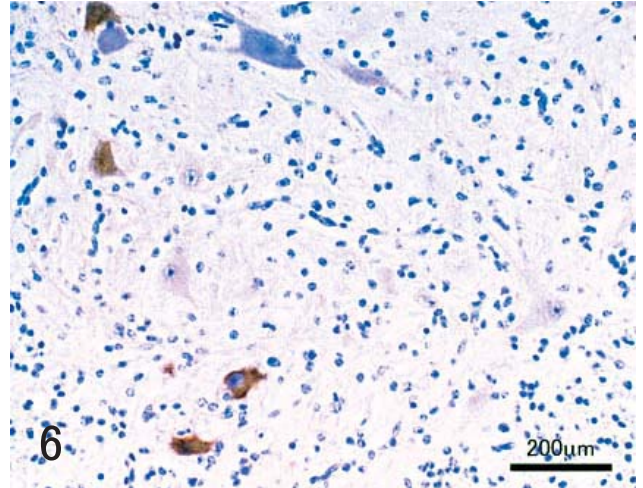


Fig.6 Fetus #2: AKAV antigen within the cytoplasm of neurons in the ventral horn of the spinal cord. IHC.

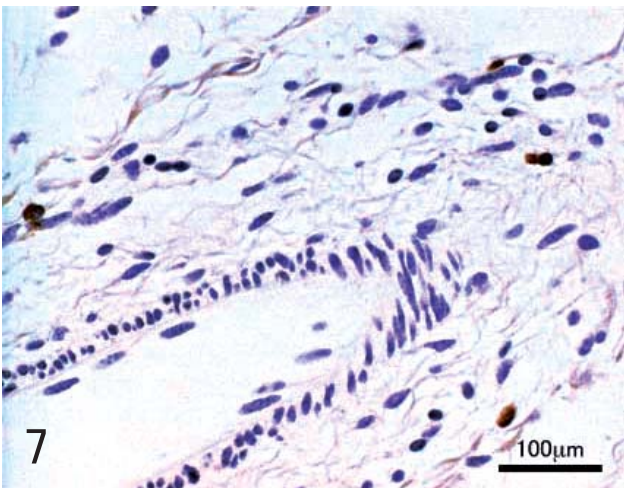


Fig.7 Fetus #2: AKAV antigen within the cytoplasm of perivascular infiltrating macrophages in the thigh muscle. IHC.

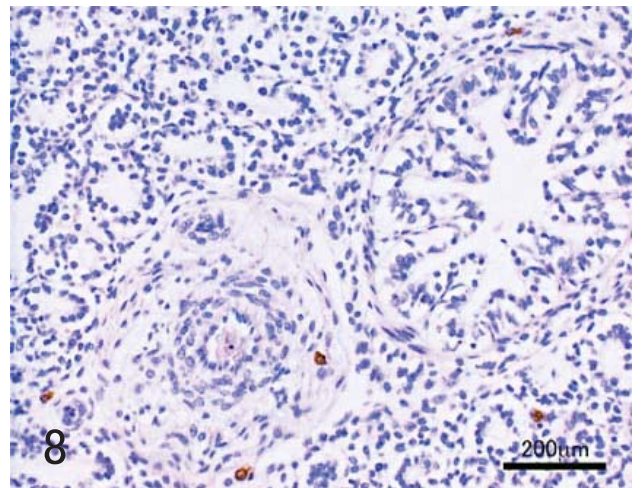


Fig.8 Fetus #1: AKAV antigen within the cytoplasm of perivascular infiltrating macrophages in the lung. IHC.

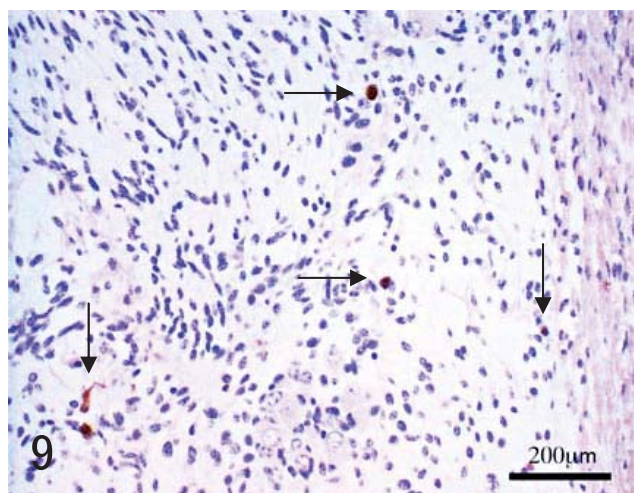


Fig.9 Fetus #1: AKAV antigen within the cytoplasm of infiltrating macrophages (arrows) in the subepicardial connective tissue. IHC.

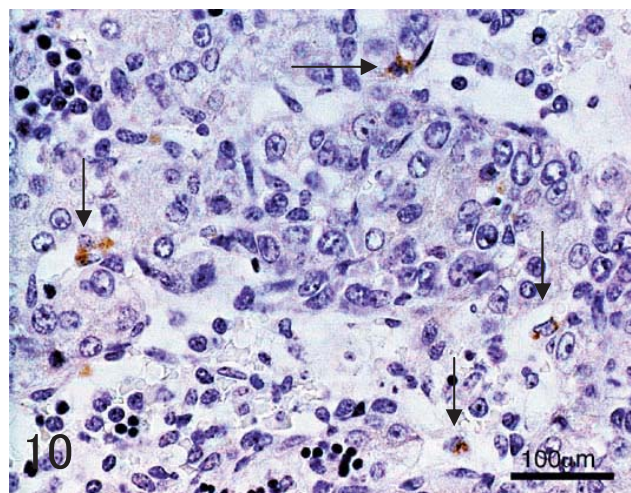


Fig.10 Fetus #2: AKAV antigen within the cytoplasm of Kupffer's cells (arrows) in the liver. IHC.

Summary

Detection of Akabane viral antigens in lesions found in fetal calves resulting from experimental intrauterine infection

Shogo TANAKA¹⁾*, Kenichi KAWASAKI¹⁾, Masumi SATO²⁾, Tohru YANASE¹⁾,
Tomoko KATO¹⁾, Hirotaka HORIWAKI¹⁾ & Makoto YAMAKAWA¹⁾

Akabane virus (AKAV) was injected experimentally to clarify the primary distribution of the lesion and the viral antigen of the second trimester fetal calves. AKAV OBE-1 strain was injected surgically to two Japanese black fetal calves at the 150 days of gestation at the fetal femoral region via the maternal uterus. The fetal organs were collected 7 days after inoculation and submitted to viral, histopathological and immunohistochemical examinations. AKAV was isolated from the cerebellum, medulla oblongata, cervical spinal cord and the heart of the two fetuses. Perivascular cuffs and gliosis were existed in brain stem and perivascular inflammation by lymphocytes and macrophages was observed in the liver, heart and the femoral muscles. The lesion such as myositis or atrophy was not seen in the skeletal muscles. AKAV antigens were detected in the nerve cells, axons, nerve fibers, neuroglia and the macrophages infiltrated the perivascular region. In the spinal cords, AKAV antigens were detected in the nerve cells and axons in the ventral horns, although no inflammations were existed. Therefore, the lesions were primary occurred in the brain stem but in the muscles in the second trimester fetuses that were inoculated with AKAV.

KEY WORDS: Akabane, experimental infection, pathology, fetal calf